

Министерство науки и высшего образования РФ
Правительство города Севастополя
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Федеральный исследовательский центр
«Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»
Всероссийское гидробиологическое общество при Российской академии наук
Русское географическое общество
Паразитологическое общество при Российской академии наук

Изучение водных и наземных экосистем: история и современность

Международная научная конференция, посвящённая 150-летию
Севастопольской биологической станции —
Института биологии южных морей имени А. О. Ковалевского
и 45-летию НИС «Профессор Водяницкий»

Тезисы докладов

13–18 сентября 2021 г.
Севастополь, Российская Федерация

Севастополь
ФИЦ ИНБЮМ
2021

Морфологические и функциональные особенности зелёных микроводорослей рода *Coelastrella*

Челебиева Э. С., Данцюк Н. В., Чубчикова И. Н., Дробецкая И. В., Минюк Г. С.

ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН», Севастополь, Россия

elina.chelebieva@gmail.com

Род *Coelastrella* Chodat, 1922 (Sphaeropleales, Chlorophyta) впервые был описан швейцарским ботаником Робером Шода в 1922 г. и первоначально включал 4 вида. В настоящее время, по результатам молекулярно-генетической и электронно-микроскопической ревизии семейства Scenedesmeaceae, род насчитывает 18 видов, отличающихся специфичным, чётко выраженным морфологическим признаком — присутствием на поверхности клеточной стенки гладких меридиональных ребер (4–12, 20), сходящихся на полюсах. Наличие небольших утолщений на полюсах и возрастная изменчивость формы клеток (от лимоновидной до сфероидной и шаровидной) также считаются релевантными таксономическими признаками видов этого рода. К характерным, но не видоспецифичным морфоструктурным особенностям *Coelastrella* spp. относятся: одноядерность; пластинчатый парietальный хлоропласт; единственный пиреноид, ассоциированный с хлоропластом, который окружён двумя крахмальными обертками; многослойная клеточная стенка с внутренним целлюлозным и наружным триламилярным слоями; отсутствие полового размножения и жгутиковых стадий в клеточном цикле; размножение автоспорами (по 4–16 в автоспорангии). Более мелкие, чем вегетативные клетки, автоспоры содержат многочисленные вакуоли, крахмальные зёрна и липидные капли, окрашенные каротиноидами. После выхода из спорангиев они нередко остаются некоторое время сгруппированными во временные ценобии.

Существенное возрастание интереса к представителям этого рода, наметившееся в последние 10–15 лет, связано прежде всего с выявлением и оценкой их биотехнологического потенциала, а именно способности к коммерчески значимому накоплению сразу двух востребованных рынком продуктов: антиоксидантных каротиноидов астаксантина и кантаксантина, а также нейтральных липидов, пригодных по жирнокислотному составу для производства биодизеля, отвечающего всем международным техническим стандартам. Эффективным инструментом выявления новых претендентов на роль промышленно перспективных объектов является лабораторный скрининг видов и штаммов каротиногенных микроводорослей методом двухстадийной культуры. Это убедительно показано как в ряде наших собственных исследований по данной тематике, так и в многочисленных исследованиях зарубежных коллег.

Цель данной работы состояла в сравнительном анализе морфометрических и физиолого-биохимических характеристик трёх вариантов рода *Coelastrella* из рабочей коллекции каротиногенных микроводорослей ФИЦ ИнБЮМ при выращивании по разработанной в ИнБЮМ схеме двухстадийного культивирования продуцентов астаксантина. Все три объекта исследования были получены по обмену — из коллекций Киевского национального университета имени Т. Г. Шевченко (*Coelastrella* sp., штамм IBSS-109 = ACKU 144-02), Института физиологии растений РАН (*Coelastrella rubescens* (Vinatzer) Kaufnerová et Eliás, штамм IBSS-12 = IPPAS H-350) и Иранского университета наук и технологий (Iran University of Science and Technology) (штамм *Coelastrella* sp. IBSS-112, выделенный из планктонной пробы Каспийского моря).

Основные задачи исследования:

- молекулярно-генетическая верификация таксономического статуса штаммов по нуклеотидной последовательности фрагментов ядерного гена 18S рДНК;
- анализ изображений поверхности клеточных стенок штаммов, полученных методом сканирующей электронной микроскопии;
- определение характера динамики ключевых морфофизиологических характеристик штаммов на различных этапах двухстадийного культивирования, а именно численности, формы и объёмов клеток; удельной и средней скорости роста культур; содержания хлорофиллов и суммарных каротиноидов в культурах и клетках; продуктивности штаммов по сухому веществу и пигментам; содержания и состава вторичных каротиноидов в конечной биомассе.

Молекулярно-генетический и электронно-микроскопический анализ вариететов подтвердил таксономический статус штаммов IBSS-12 и IBSS-109, указанный при их передаче из коллекций АСКУ и IPPAS. Иранский штамм IBSS-112 отличается от двух других отсутствием специфичных для оболочки *Coelastrella* spp. меридиальных рёбер и наличием на поверхности клеток шипов и бородавок, характерных для представителей рода *Desmodesmus*. Для более точной идентификации этого штамма необходимо провести анализ с использованием дополнительных филогенетических маркеров ITS и *rbcL*.

Анализ динамики морфофизиологических характеристик исследуемых штаммов выявил заметные различия между ними по размерной структуре клеточных популяций, скорости роста, характеру реакции на стресс-воздействие и содержанию суммарных каротиноидов в конечной биомассе. Так, по максимальной скорости роста (на «зелёной» стадии культивирования) подтверждённые штаммы *Coelastrella* (IBSS-109 = АСКУ 144-02 и IBSS-12 = IPPAS H-350) различались более чем в два раза ($\mu_{\text{макс.}}$ 1,24 и 0,54 сут⁻¹ соответственно), а по средней удельной скорости роста — незначительно ($\mu_{\text{ср.}}$ 0,22 и 0,25 сут⁻¹ соответственно).

Аналогичные различия между этими штаммами были зарегистрированы по средней продуктивности культур по клеткам ($8,85 \cdot 10^5$ и $1,20 \cdot 10^6$ кл.·мл⁻¹·сут⁻¹ соответственно) и по сухой биомассе (194,40 и 150,09 мг·л⁻¹·сут⁻¹ соответственно). Самой высокой средней скоростью роста «зелёных» культур отличался штамм IBSS-112 (предположительно *Desmodesmus* sp.), опережавший по этому признаку штаммы *Coelastrella* в 1,3–1,4 раза, а по продуктивности (в клетках) — в 2,2–2,9 раза. Однако стресс-реакция на индукцию вторичного каротиногенеза (путём резкого положительного градиента освещённости в сочетании с дефицитом элементов питания) у этого штамма была самой сильной. Она выражалась в помутнении культуральной среды, прекращении деления клеток и их массовом отмирании, а также в отсутствии визуальных признаков вторичного каротиногенеза. Штаммы IBSS-12 и IBSS-109, напротив, сохраняли способность к делению на протяжении всей «красной» стадии и активно накапливали в клетках сухое вещество и вторичные каротиноиды (главным образом, эфиры астаксантина, кантаксантин и эхиненон). К концу эксперимента содержание суммарных каротиноидов в сухой биомассе у штаммов IBSS-109 и IBSS-12 составило 0,23 и 0,35 % соответственно, а у штамма IBSS-112 — только 0,076 %.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ по теме «Исследование механизмов управления продукционными процессами в биотехнологических комплексах с целью разработки научных основ получения биологически активных веществ и технических продуктов морского генезиса» (№ гос. регистрации 121030300149-0).